15
体外診断用医薬品

1001571001-069C
（第３版）

CA19-9

Immuno Enzymometric Assay

癌抗原１９－９キット

STEテスト「TOSOH」II (CA19-9)

ST AIA-PACK CA19-9

1001571001-069C
体外診断用医薬品

＊＊2009年 6月改訂（第3版）
＊2008年10月改訂（第2版）
承認番号 20400AMZ00913000

この添付文書をよく読んでから使用してください。

癌抗原19－9キット

ST Eテスト「TOSOH」II（CA19-9）免疫反応試薬

EIA法による血清又はヘパリン血漿中のCA19-9測定用試薬

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用については保証を致しません。
4. 本キットの構成試薬には、HBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体が陰性であることが確認されていますが被検検体の取扱いと同様に取扱いには注意してください。
5. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置をご使用の際には、装置添付の取扱説明書をよく読んでから使用してください。
6. 本品は、全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-1200シリーズ、AIA-600での使用はできません。

[形状・構造等（キットの構成）]

本製品のご使用の際には、本添付文書のほかそれぞれの添付文書もご参照ください。

1. Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）免疫反応試薬
   抗CA19-9マウスモノクローナル抗体固定化ビーズ
   抗CA19-9マウスモノクローナル抗体アルカリ性ホスファターゼ結合物
2. Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品セット
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（1）
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（2）
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（3）
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（4）
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（5）
   - Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（6）
3. Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）検体希釈液
4. Eテスト「TOSOH」II基質セット（ラベルに**桃色**で**SUB II**と表示）
   1）Eテスト「TOSOH」II基質
      4-メチルウンベリフェリルりん酸
   2）Eテスト「TOSOH」II基質溶解液
5. Eテスト「TOSOH」II洗浄液
6. Eテスト「TOSOH」II分注液

[使用目的]

血清又は血漿中のCA19-9の測定

[測定原理]

1. 特徴

1）全自動エンザイムイムノアッセイ装置（AIA-1200シリーズ及びAIA-600を除く）を用いて、短時間で自動測定できます。（抗原抗体反応時間は10分）
2）高親和性抗CA19-9モノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。
3）抗CA19-9モノクローナル抗体と酵素標識された抗CA19-9モノクローナル抗体が、試薬カップに凍結乾燥状態で封入されているため、試薬調製の必要がありません。
4）抗原抗体反応から蛍光測定まで専用の試薬カップ内で行われるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがほとんどありません。
5）放射性同位元素を使用していないので、そのための特殊な設備を必要としません。

2. 測定原理

本法の原理は、マウスモノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。磁性ビーズに固定化された抗CA19-9モノクローナル抗体と、酵素としてアルカリ性ホスファターゼが標識された抗CA19-9モノクローナル抗体とが、凍結乾燥体として試薬カップに封入されています。この試薬カップに検体と分注水を添加すると、凍結乾燥試薬が溶解し抗原抗体反応が開始します。

一定時間、一定温度で抗原抗体反応をした後、洗浄水で洗浄することにより遊離の酵素標識抗体と検体成分を除去します（B・F分離）。その後、磁性ビーズに結合した酵素活性を測定するため酵素基質として4-メチルウンベリフェリルりん酸を添加し、酵素反応の結果得られる蛍光物質（4-メチルウンベリフェロン）の生成速度を測定することにより、血清又はヘパリン血漿中のCA19-9濃度を知ることができます。

[操作上の注意]

1. 検体には新鮮な血清又はヘパリン血漿を用いてください。**血漿はヘパリン血漿以外は用いないでください。**血清又はヘパリン血漿を分取する場合は、溶血させないようご注意ください。検体を保存する場合は2～8℃は避け、－20℃以下で凍結保存してください。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 検体の希釈にはEテスト「TOSOH」II（CA19－9）検体希釈液を用い、十分に混和してください。
＊4. 妨害物質
   ヘモグロビンは390 mg/dLまで、遊離型ビリルビンは17 mg/dLまで、抱合型ビリルビンは18 mg/dLまで、脂質は1,600 mg/dLまで、アルブミンは2.5 g/dLまで、アスコルビン酸は20 mg/dLまで、ヘパリンは100 U/mL（日本薬局方定量法による）まで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. EDTA又はクエン酸を含む検体は低値を示すことがあります。
6. 2～8℃保存されていた試薬をご使用の際には、15～25℃に戻してからご使用ください。

[用法・用量（操作方法）]

1. 試薬の調製法及び調製後の貯法・有効期間

1）免疫反応試薬
   Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）免疫反応試薬の防湿袋を開封してご使用ください。開封後は、15～25℃放置で1日、2～8℃保存で7日間有効です。
＊2）検体希釈液
   Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）検体希釈液は液体ですので、開封後、そのままご使用ください。開封後は密封するならば、2～8℃保存で7日間有効です。また、使用の際には15～25℃に戻してから使用してください。
   但し、全自動エンザイムイムノアッセイ装置に検体希釈液を架設しない場合（自動希釈機能を利用しない場合）に限り、**ST**とラベル表示された免疫反応試薬で測定する場合は、毎回使用後直ちに密封し2～8℃で保存するならば90日間有効です。
3）標準品
   Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（1）は液体ですので、開封後そのままご使用ください。Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（2）～（6）は凍結乾燥品ですので、それぞれ精製水1.0 mLで溶解してご使用ください。いずれも、開封後あるいは調製後は密封するならば、2～8℃保存で1日間有効です。
   Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品の表示濃度は、社内標準品を基準として決めたものです。
4）基質液
   Eテスト「TOSOH」II基質1びんにEテスト「TOSOH」II基質溶解液1びん（100 mL）を加えて基質液を調製してください。調製後は、遮光下、15～25℃で3日間、2～8℃保存で7日間有効です（直射日光、紫外線に当てないように注意してください）。
5）洗浄水
   Eテスト「TOSOH」II洗浄液1びんを適量の精製水で希釈して2.5 Lとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、洗浄水を調製してください。調製後は15～25℃放置で30日間有効です。
6）分注水
   Eテスト「TOSOH」II分注液1びんを適量の精製水で希釈して5 Lとし、濃度勾配を生じないよう十分に混和して、分注水を調製してください。調製後は15～25℃放置で30日間有効です。

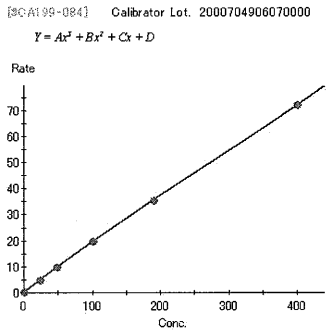
2. 必要な器具・器材・試薬等

＊1）検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、別売の弊社コントロールをお薦めします。
2）測定の際には、必要に応じてピペット、サンプルカップ、サンプルチップ等をご用意ください。

3. 測定（操作）法

1）Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）免疫反応試薬の試薬カップのアルミシールを破ります。
2）この試薬カップに分注水100 μLと、標準品又は検体50 μLを正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら撹拌し、37℃で10分間、抗原抗体反応を行います。
3）試薬カップを洗浄水で洗浄し、未反応の酵素標識抗体及び検体成分を除去します（B・F分離）。
4）基質液を一定量注入した後、磁性ビーズを振動・撹拌させながら、酵素反応により生成した蛍光物質の蛍光強度を落射型蛍光光度計を用いて、励起波長363 nm、蛍光波長447 nmで測定し、蛍光物質の生成速度を算出します。
＊5）標準品に対する蛍光物質の生成速度から検量線を作成し、検体中のCA19-9濃度を算出します。
   なお、検量線は次の場合に作成します。
   ① 免疫反応試薬のロットの変更時
   ② 同一の免疫反応試薬ロットにおいて90日を超えた場合
   ③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられた場合
6）測定結果が400 U/mLを超えたときは検体希釈液を用いて適宜希釈率を変えて検体を希釈し、同様の操作1）～5）により再測定します。

＊　全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-1800を使用したときに得られる検量線の例を次に示します。



[測定結果の判定法]

1. 測定結果の判定

1) Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品セットを用いて作成した検量線から検体中のCA19-9濃度を算出します。

2) 結果を判定するための基準値は各検査施設で設定してください。

3) 参考基準範囲

健常者（男性100例、女性100例　計200例：平均年齢48歳）の血清中CA19-9濃度を測定した結果は対数正規分布に近い形を示し、平均値±2SDでの基準範囲は37 U/mL以下でした。なお、参考基準範囲は種々の要因で変動しますので、各施設にて設定願います。

2. 判定上の注意

1) 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

2) SI単位への変換について

本添付文書においてはCA19-9濃度をU/mL単位で表記しています。SI単位であるkU/Lへの変換には次の関係式を用いることができます。

kU CA19-9/L = U CA19-9 /mL × 1.0

[臨床的意義]

CA19-9（Carbohydrate Antigen 19-9）は1979年にKoprowskiらによって発見された消化器癌関連抗原です（*1,2*）。CA19-9は抗原決定基としてシアリルールイスA糖鎖を持つ抗原であり、血中ではムチン型糖たんぱく質の形で存在しています（*3-5*）。CA19-9は腫瘍組織以外にも膵臓、胆嚢、胎便、唾液などに含まれています。血清中CA19-9が高値を示す症例は、膵臓癌、胆道系癌、大腸癌、肝臓癌に陽性例が報告されており、特に膵臓癌、胆道系癌に多くの陽性例が認められます（*6-9*）。膵臓、胆道系の悪性腫瘍の診断、治療効果の判定、及び経過観察に有効な検査として、CA19-9の測定は広く利用されています。

[性能]

1. 感度

1) EテストTOSOH」II（CA19－9）標準品（1）の蛍光単位（FU、Rateとも呼ぶ）は8（nmol/（L・s））以下です。

2) Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（1）とEテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品（6）のFUを測定して、CA19-9濃度に対するFUの比［注］を求めると、0.1～1.0（nmol/（L・s））/（U/mL）となります。

［注］FUの比は、下式により計算しました。

FUの比＝（A－B）/C

A：標準品（6）のFU　（nmol/（L・s））

B：標準品（1）のFU　（nmol/（L・s））

C：標準品（6）のCA19-9濃度　（U/mL）

2. 正確性

コントロール［注］を測定するとき、その測定値は表示濃度の100±20%以内です。

［注］コントロールとは、東ソーCA19－9標準品を対照としてEテスト「TOSOH」II（CA19－9）を用いて測定し、表示値を定めたものをいいます。

3. 同時再現性

同一コントロールを10回同時に測定するとき、測定値の変動係数は15%以下です。

4. 測定範囲：1.0～400 U/mL

低濃度検出限界1.0 U/mLは、標準品（1）～（6）の測定値から検量線を作成し、標準品（1）のFUの推定平均値（y切片）＋2×SD（10回測定の標準偏差）に対応する濃度として算出しました。

抗原過剰により誤って低い値が報告される現象は200,000 U/mL以下の濃度ではおこりません。

5. 相関性試験成績

本法（y）と弊社EIA法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

y = 1.031 x - 2.23

r = 0.993

n = 60

なお、本法でヘパリン血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

y = 0.990 x - 0.144

r = 0.999

n = 107

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 使用上の注意

1) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

＊＊2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。特に、免疫反応試薬を試薬トレイごと架設する機種は、項目名及びロット番号の識別を試薬トレイのバーコード情報でのみ行い、個々の試薬カップのドットコードでは行いませんのでご注意ください。

＊3) 検量線の有効期間は90日です。これを過ぎた場合は、新たに検量線を作成してください。また、精度管理用サンプルの測定値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられる場合には、90日以内であっても検量線を作成しなおしてください。

4) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体の保存が必要な場合には凍結して保存してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。

5) 試験器具などの汚れは判定を誤らせることがありますので、清浄なものを使用してください。

6) 本製品のご使用に当たっては、次に示す別売の試薬と組み合わせてください。

Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品セット

Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）検体希釈液

Eテスト「TOSOH」II基質セット（ラベルに**桃色**で**SUB II**と表示）

Eテスト「TOSOH」II洗浄液

Eテスト「TOSOH」II分注液

7) 本品は血清又はヘパリン血漿中のCA19-9測定試薬ですので、検体には上記以外のものを用いないでください。なお、血漿にはヘパリン血漿を用いてください。

＊8) 検体にはHAMA（Human Anti-mouse Antibody）を含むものがありますが、マウスモノクローナル抗体を用いた測定系では正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご使用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

2. 取扱い上（危険防止）の注意

1) 試料（検体）はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるために使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。

2) 本品には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

3. 廃棄上の注意

1) 本品には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管・銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。

2) 検体の付着したピペットチップ、手袋などの器具及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば121℃、20分以上）などで滅菌後廃棄してください。

3) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

[貯蔵方法及び有効期間]

1. 貯蔵方法　2～8℃保存

2. 有効期間　12ヶ月

※使用期限は、箱、アルミ袋及びトレイのラベルに記載されています。

＊＊[包装単位]

品番	品名	包装
0025271	注）Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）免疫反応試薬	100回測定分

※別売品

品番	品名	包装
0015371	Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）標準品セット	標準品(1)：1.0 mL入り ×2本 標準品(2)-(6)：各1.0 mL用 ×2本
0015571	Eテスト「TOSOH」II（CA19－9）検体希釈液	4.0 mL入り ×4本
0015968	Eテスト「TOSOH」II基質セット Eテスト「TOSOH」II基質 Eテスト「TOSOH」II基質溶解液	 100 mL用 ×2本 100 mL入り ×2本
0015955	Eテスト「TOSOH」II洗浄液	100 mL入り ×4本
0015956	Eテスト「TOSOH」II分注液	100 mL入り ×4本

[主要文献]

1. Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, M., Herlyn, D. and Fuhrer, P.: Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somatic Cell Genetics, **5**, 957 (1979).
2. Herlyn, M., Steplewski, Z. and Koprowski, H.: Colorectal carcinoma-specific antigen: Detection by means of monoclonal antibodies. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., **76**, 1437 (1979).
3. Magnani, J., Brockhaus, M., Smith, D., Ginsburg, V., Blaszczyk, M., Mitchell, K., Steplewski, Z. and Koprowski, H.: A Monosialoganglioside is a monoclonal antibody defined antigen of colon carcinoma. Science, **212**, 53 (1981).
4. Magnani, J., Nilson, B., Brockhaus, M., Zopf, D., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V.: A Monoclonal antibody-defined antigen associated with gastrointestinal cancer is a ganglioside containing sialylated lacto-N-fucopentaose II. J. Biol. Chem., **257**, 14365 (1982).
5. Magnani, J., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V.: Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera of patients as a mucin. Cancer Research, **43**, 5489 (1983).
6. Delvillano, B., Brennan, S., Brock, P., Bucher, C., Liu, V., McClure, M., Rake, B., Space, S., Westrick, B., Shoemaker, H. and Zurawski, V. : Radio immunometric assay for monoclonal antibody-defined tumor marker, CA19-9. Clin. Chem., **29**, 549 (1983).
7. Delvillano, B. and Zurawski, V.: The carbohydrate antigenic determinant 19-9 (CA19-9): A monoclonal antibody defined tumor marker. The national conference on immuno diagnostics, 269 (1983).
8. 大倉久直、坂脇多津、CA19-9の診断的意義，胆と膵，6, 1087(1985)
9. 大倉久直、坂脇多津、原 和子、三橋文子，糖鎖抗原19-9（CA19-9），日本臨床，48（増刊号），931 (1990)

＊[問い合わせ先]

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川2743-1
フリーダイアル（0120）17-1200
TEL.（0467）76-5384
FAX.（0467）79-2550

［製造販売業者の氏名又は名称及び住所］

製造販売元

東ソー株式会社

東京都港区芝 3-8-2

TEL. (03)5427-5181

FAX. (03)5427-5220

製造元

東ソー・エイアイエイ株式会社

富山県富山市岩瀬古志町 2 番地

Attention

For North and South American Customers: Please refer to the AIA-AAM Docs on CD for the appropriate information.

Para los Clientes en Norte y Sur América: favor de referirse a los documentos AIA-AAM en Disco para la información apropiada.

Aos clientes da América do Norte e América do Sul: favor consultar os documentos do AIA-AAM que estão em CD para informações adequadas.

Pour les clients en Amérique du Nord et en Amérique du Sud: veuillez consulter les documents AIA-AAM sur le CD pour l' information appropriée.

ST AIA-PACK CA19-9

For Quantitative Measurement of carbohydrate antigen 19-9 (hereinafter called "CA 19-9", which is the registered trademark of Fujirebio Diagnostics, Inc) in Serum or Heparinized Plasma

NAME AND INTENDED USE

ST AIA-PACK CA19-9 is designed for IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY for quantitative measurement of CA 19-9 in human serum or heparinized plasma on TOSOH AIA System Analyzers.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

Carbohydrate antigen 19-9 (CA 19-9) is a digestive cancer associated antigen found by Koprowski and his co-workers in 1979 *(1,2)*. CA 19-9 is an antigen holding sialyl Lewis A glycated chain as an antigen determinant and is present in blood in the form of mucin glycoprotein *(3-5)*.
CA 19-9 is contained in such as pancreas, gallbladder, meconium, and saliva as well as in tumor tissues.
Elevated serum CA 19-9 levels have been reported in patients with pancreatic cancer, biliary cancer, carcinoma of colon and rectum, and liver cancer. Many of these examples are observed in pancreatic and biliary cancers *(6-8)*.
Since false positive rate is less for benign diseases, measurement of CA 19-9 is widely used as an effective test for diagnosis of malignant tumors of pancreas and biliary and as an effective tool to make a decision of medical treatment effectiveness and to do follow-ups.

PRINCIPLE OF THE ASSAY

The ST AIA-PACK CA19-9 is a two-site immunoenzymometric assay which is performed entirely in the AIA-PACK test cups. CA 19-9 present in the test sample is bound with monoclonal antibody immobilized on a magnetic solid phase and enzyme-labeled monoclonal antibody in the AIA-PACK test cups. The magnetic beads are washed to remove unbound enzyme-labeled monoclonal antibody and are then incubated with a fluorogenic substrate, 4-methylumbelliferyl phosphate (4MUP). The amount of enzyme-labeled monoclonal antibody that binds to the beads is directly proportional to the CA 19-9 concentration in the test sample. A standard curve is constructed, and unknown sample concentrations are calculated using this curve.

MATERIAL PROVIDED (ST AIA-PACK CA19-9, Cat. No. 0025271)

Plastic test cups containing lyophilized twelve magnetic beads coated with anti-CA 19-9 mouse monoclonal antibody and 100 μL of anti-CA 19-9 mouse monoclonal antibody (to CA 19-9) conjugated to bovine alkaline phosphatase with sodium azide as a preservative.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

The following materials are not provided but are required to perform CA 19-9 analysis using the ST AIA-PACK CA19-9 (Cat. No. 0025271) on the TOSOH AIA System Analyzers. They are available separately from TOSOH.

Materials			Cat. No.
AIA Nex·IA or AIA-21			0018539
AIA Nex·IA or AIA-21 LA			0018540
AIA-1800 ST			0019836
AIA-1800 LA			0019837
AIA-2000 ST			0022100
AIA-2000 LA			0022101
AIA-600 II			0019014
AIA-600 II BCR			0019328
AIA-360			0019945
AIA-PACK SUBSTRATE SET II			0020968
AIA-PACK SUBSTRATE REAGENT II			
AIA-PACK SUBSTRATE RECONSTITUENT II			
AIA-PACK CA19-9 CALIBRATOR SET			0020371
CALIBRATOR (1)	0	U/mL	
CALIBRATOR (2)	25	U/mL (approx.)	
CALIBRATOR (3)	50	U/mL (approx.)	
CALIBRATOR (4)	100	U/mL (approx.)	
CALIBRATOR (5)	200	U/mL (approx.)	
CALIBRATOR (6)	420	U/mL (approx.)	
AIA-PACK CA19-9 SAMPLE DILUTING SOLUTION			0020571
AIA-PACK WASH CONCENTRATE			0020955
AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE			0020956
SAMPLE CUPS			0018581
AIA-PACK DETECTOR STANDARDIZATION TEST CUP			0020970
AIA-PACK SAMPLE TREATMENT CUP			0020971
Additional Requirements for AIA Nex·IA / AIA-21 only:			
PIPETTE TIPS			0018552
PRELOADED PIPETTE TIPS			0018583
Additional Requirements for AIA-600 II, AIA-1800 and AIA-2000:			
PIPETTE TIPS			0019215
TIP RACK			0019216
PRELOADED PIPETTE TIPS			0022103

Only materials obtained from TOSOH should be used. Materials obtained elsewhere should not be substituted since assay performance is characterized based strictly on TOSOH materials.

ASSAY PREPARATION

1. Set up the TOSOH AIA System Analyzers for CA 19-9 analysis. REFER TO THE APPROPRIATE TOSOH AIA SYSTEM ANALYZERS OPERATOR'S MANUAL.
2. Bring all test samples and controls to 18-25°C, and mix well.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. The ST AIA-PACK CA19-9 is intended for in vitro diagnostic use only.
2. Test cups from different lots or different assays should not be mixed within a tray.
3. The ST AIA-PACK CA19-9 contains sodium azide, which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of such reagents, always flush with large volumes of water to prevent azide build-up.
4. Human serum is not used in the preparation of this product; however since human specimens will be used for samples and other quality control products in the lab may be derived from human serum, please use standard laboratory safety procedures in handling all specimens and controls.
5. Do not use beyond the expiration date.
6. The ST AIA-PACK CA19-9 has been designed so that the high dose "hook effect" is not a problem for the vast majority of samples. Samples with CA 19-9 concentrations between 400 and 200,000 U/mL will read > 400 U/mL. The "hook effect" phenomenon may occur at CA 19-9 concentrations > 200,000 U/mL.
7. TOSOH AIA-1200 series or AIA-600 Immunoassay Analyzers can NOT be used to perform the ST AIA-PACK CA19-9 assay.

STORAGE AND STABILITY

All unopened materials are stable until the expiration date on the label when stored at the specified temperature.

Materials	Cat. No.
2-8°C:	
ST AIA-PACK CA19-9	0025271
AIA-PACK CA19-9 CALIBRATOR SET	0020371
AIA-PACK CA19-9 SAMPLE DILUTING SOLUTION	0020571
AIA-PACK SUBSTRATE SET II	0020968
AIA-PACK WASH CONCENTRATE	0020955
AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE	0020956
1-30°C:	
AIA-PACK DETECTOR STANDARDIZATION TEST CUP	0020970
AIA-PACK SAMPLE TREATMENT CUP	0020971

ST AIA-PACK CA19-9 test cups may be stored at 18-25°C for up to 1 day. Calibrators and Sample Diluting Solution should be used within 1 day and 7 days of opening or reconstituting, respectively, provided the vials are kept tightly sealed and refrigerated at 2-8°C. They should be used after equilibrating to 18-25°C for about 30 minutes. The Sample Diluting Solution can be used for up to 90 days provided that 1) it is used with only ST AIA-PACK CA19-9, 2) it is used for manual dilutions ONLY, and 3) the vials are kept tightly sealed and refrigerated immediately after use. Reconstituted substrate solution is stable for 3 days at 18-25°C or 7 days at 2-8°C. Working diluent and wash solutions are stable for 30 days at 18-25°C. Reagents should not be used if they appear cloudy or discolored.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

- Serum or heparinized plasma is required for the assay. EDTA and citrated plasma SHOULD NOT BE USED.
- If using serum, a venous blood sample is collected aseptically without additives. Store at 18-25°C until a clot has formed (usually 15-45 minutes), then centrifuge to obtain the serum specimen for assay.
- If using heparinized plasma, a venous blood sample is collected aseptically with designated additive. Centrifuge and separate plasma from the packed cells as soon as possible.
- Specimen types should not be used interchangeably during serial monitoring of an individual patient. Measured concentrations may vary slightly between sample types in certain patients.
- Samples may be stored at 2-8°C for up to 24 hours prior to analysis. If the analysis cannot be done within 24 hours, the sample should be stored frozen at –20°C or below for up to 60 days.
- Repeated freeze-thaw cycles should be avoided. Turbid serum samples or samples containing particulate matter should be centrifuged prior to testing. Prior to assay, bring frozen samples to 18-25°C slowly and mix gently.
- The sample required for analysis is 50 μL.

PROCEDURE

For the AIA Nex·IA / AIA-21, AIA-600 II, AIA-1800, AIA-2000 and AIA-360, please refer to their Operator's Manual for detailed instructions.

I. Reagent Preparation

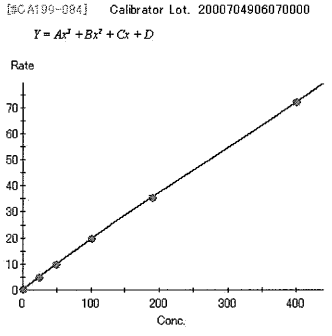
A) Substrate Solution
Bring all reagents to 18-25°C before preparing the working reagent. Add the entire contents of the AIA-PACK SUBSTRATE RECONSTITUENT II (100 mL) to the lyophilized AIA-PACK SUBSTRATE REAGENT II and mix thoroughly to dissolve the solid material.

B) Wash Solution
Add the entire contents of the AIA-PACK WASH CONCENTRATE (100 mL) to approximately 2.0 L of CAP Class I or NCCLS Type I Reagent Grade water, mix well, and adjust the final volume to 2.5 L.

C) Diluent
Add the entire contents of the AIA-PACK DILUENT CONCENTRATE (100 mL) to approximately 4.0 L of CAP Class I or NCCLS Type I Reagent Grade water, mix well, and adjust the final volume to 5.0 L.

II. Calibration Procedure

A) Calibration Curve
The calibrators for use with the ST AIA-PACK CA19-9 are prepared gravimetrically and are compared to internal reference standards.
The calibration curve for ST AIA-PACK CA19-9 is stable for up to 90 days. Calibration stability is monitored by quality control performance and is dependent on proper reagent handling and TOSOH AIA System maintenance according to the manufacturer's instructions. Recalibration may be necessary more frequently if controls are out of the established range for this assay or when certain service procedures are performed (e.g. temperature adjustment, sampling mechanism changes, maintenance of the wash probe or detector lamp adjustment or change). For further information regarding instrument operation, consult the TOSOH AIA System Operator's Manual.
A sample calibration curve from AIA-1800 follows and shows the algorithm used for calculating results.



B) Calibration Procedure
1. Refer to the appropriate TOSOH AIA System Operator's Manual for the procedural instructions.
2. Verify that both the calibrator lot and concentration numbers have been correctly entered into the software.
3. CALIBRATOR (1) for ST AIA-PACK CA19-9 is provided ready for use. TOSOH recommends that all calibrators should be run in triplicate.
4. CALIBRATOR (2)-(6) for ST AIA-PACK CA19-9 are lyophilized. All levels should be reconstituted with 1.0 mL of CAP Class I or NCCLS Type I Reagent Grade water. TOSOH recommends that all calibrators should be run in triplicate.

C) Calibration Acceptability Criteria
1. The mean rate for the CALIBRATOR (1) should be < 3.0 nmol/(L·s).
2. Since there is a direct relationship between concentration and rate, the rate should increase as the concentration increases.
3. The replicate values should be within a 10% range.

D) Calibration Review and Acceptance
1. Review the calibration curve carefully, using the criteria listed above.
2. Edit the calibration if necessary, then accept the calibration.

For further information regarding calibration, consult the TOSOH AIA System Operator's Manual.

III. Quality Control Procedure

A) Commercially Available Controls

Commercially available controls should be run at least once per day. It is recommended that at least two levels of controls, normal and abnormal, be used. Laboratory policy for this particular assay designates the following:

Control Material: _____
Frequency: _____

Lot number of control material, acceptable limits, and corrective action to be taken if controls do not meet laboratory criteria will be found in a separate quality control document maintained by the laboratory.

B) Quality Control Procedure
1. Assay quality control specimens as instructed in the specific Operator's Manual for your analyzer. In addition, refer to the TOSOH AIA System Operator's Manual for detailed instructions on defining and editing the files.
2. Quality control material to be run with this assay is defined by individual laboratory policy.

IV. Specimen Processing

A) Preparation

Following specific instructions in the Operator's Manual for the analyzer, place samples on the instrument appropriately. Barcoded primary tubes as well as sample cups can be run on the AIA Nex·IA / AIA-21, AIA-600 II, AIA-1800, AIA-2000 and AIA-360.

B) Assay Procedure
1. Ensure a sufficient quantity of ST AIA-PACK CA19-9 test cups for the number of samples to be run.
2. Load patient samples as instructed in the Operator's Manual and proceed with analysis. Note: The AIA Nex·IA / AIA-21, AIA-600 II, AIA-1800 and AIA-2000 will require AIA-PACK SAMPLE TREATMENT CUPs if onboard dilutions are utilized.

PROCEDURAL NOTES

1. Lyophilized substrate must be completely dissolved.
2. Ligand assays performed by the TOSOH AIA System Analyzers require that the laboratory use water designated by the College of American Pathologists as Class I or by NCCLS as Type I. Water should be tested at least once per month and should be free of particulate matter including bacteria. The pH of the water should also be routinely tested. For further information, consult the NCCLS document "Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory," NCCLS Document C3-A3, Volume 11 No. 13 originally approved as a guideline by NCCLS in October 1997.
3. If a specimen CA 19-9 concentration is found to be greater than the upper limit of the assay range, 400 U/mL, the specimen should be diluted with the AIA-PACK CA19-9 SAMPLE DILUTING SOLUTION and reassayed according to the Assay Procedure. The recommended dilution for specimens containing greater than 400 U/mL is 1:10 or 1:100. It is desirable to dilute the specimen so that the diluted specimen reads between 20 and 400 U/mL. The dilution factor should be entered into the software. For further information on the dilution of specimens, refer to the TOSOH AIA System Operator's Manual.
4. The TOSOH AIA System Analyzers can store two different calibration curves for each analyte at one time. Therefore, up to two different lots of ST AIA-PACK CA19-9 test cups can be used during the same run.
5. If the assay specifications for this test are not ready in the system software, the specifications must be entered under test code **015**.

CALCULATION OF RESULTS

The TOSOH AIA System Analyzers perform all sample and reagent handling operations automatically. The TOSOH AIA System Analyzers read the rate of fluorescence produced by the reaction and automatically convert the rate to CA 19-9 concentration in U/mL.

For samples requiring dilution, the AIA Nex·IA / AIA-21, AIA-600 II, AIA-1800 and AIA-2000 will automatically perform dilutions and calculate results if the dilution factors are entered into the software. Dilution factors may be entered into the Test File, or pre-defined dilution factors may be selected in Specimen Processing.

EVALUATION OF RESULTS

Quality Control

In order to monitor and evaluate the precision of the analytical performance, it is recommended that commercially available control samples should be assayed according to the local regulations.

The minimum recommendations for the frequency of running internal control material are:

After calibration, three levels of the internal control are run in order to accept the calibration curve.

The three levels of controls are repeated when certain service procedures are performed (e.g. temperature adjustment, sampling mechanism changes, maintenance of the wash probe or detector lamp adjustment or change).

After daily maintenance, at least two levels of the control should be run in order to verify the overall performance of the TOSOH AIA System Analyzers.

If one or more control value(s) is out of the acceptable range, it is necessary to investigate the validity of the calibration curve before reporting patient results.
Standard laboratory procedures should be followed in accordance with the strict regulatory agency under which the laboratory operates.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should be used in conjunction with other data (e.g. symptoms, results of other tests, clinical impressions, therapy, etc.).
- Using ST AIA-PACK CA19-9, the highest measurable concentration of CA 19-9 in specimens without dilution is 400 U/mL, and the lowest measurable concentration in specimens is 1.0 U/mL (assay sensitivity).
- Although the approximate value of the highest calibrator is 420 U/mL, the exact concentration may be slightly different. The assay specification, ASSAY RANGE HIGH, should be defined as the upper limit of the assay range, 400 U/mL.
- Although hemolysis has an insignificant effect on the assay, hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen prior to assay and results should be interpreted with caution.
- Lipemia has an insignificant effect on the assay except in the case of gross lipemia where spatial interference may occur.
- Specimens from patients taking medicines and/or medical treatment may show erroneous results.
- Specimens from patients who have received preparations of mouse monoclonal antibodies for diagnosis or therapy may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show falsely elevated values when tested for CA 19-9.
- For a more complete understanding of the limitations of this procedure, please refer to the SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING, WARNINGS AND PRECAUTIONS, STORAGE AND STABILITY, and PROCEDURAL NOTES sections in this insert sheet.

EXPECTED VALUES

Each laboratory should determine a reference interval which corresponds to the characteristics of the population being tested. As with all diagnostic procedures, clinical results must be interpreted with regard to concomitant medications administered to the patient.

Reference Ranges

The interval given here was determined in serum samples from 200 apparently healthy Asian subjects.

range ≦ 37 U/mL

Conversion Factors

CA 19-9 concentrations in this application are in units of U/mL. Conversion to SI units of kU/L may be made using the following equations:

kU CA 19-9 /L = U CA 19-9 /mL x 1.0

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

ACCURACY

a. Recovery: Two serum pools were spiked with three different levels of CA 19-9 and assayed before and after spiking.

Sample	Initial Value (U/mL)	CA 19-9 Added (U/mL)	Expected Value (U/mL)	Measured Value (U/mL)	Percent Recovery (%)
Serum A1	7.92	9.53	17.45	17.36	99.5
	7.92	19.06	26.98	27.72	102.7
	7.92	38.11	46.03	45.48	98.8
Serum B1	10.36	9.53	19.89	19.44	97.7
	10.36	19.06	29.42	29.84	101.4
	10.36	38.11	48.47	47.27	97.5

b. Dilution: Three serum samples containing high concentrations of CA 19-9 were serially diluted with AIA-PACK CA19-9 SAMPLE DILUTING SOLUTION and assayed.

Sample	Dilution Factor	Expected Value (U/mL)	Measured Value (U/mL)	Percent Recovery (%)
Serum A2	none		341.0	
	7.5/10	255.7	254.8	99.6
	5.0/10	170.5	176.8	103.7
	2.5/10	85.2	92.1	108.0
	1.0/10	34.1	35.6	104.3
Serum B2	none		349.2	
	7.5/10	261.9	267.4	102.1
	5.0/10	174.6	182.3	104.4
	2.5/10	87.3	94.6	108.3
	1.0/10	34.9	35.8	102.4
Serum C2	none		361.4	
	7.5/10	271.1	287.7	106.1
	5.0/10	180.7	199.6	110.4
	2.5/10	90.4	103.1	114.2
	1.0/10	36.1	40.4	111.8

PRECISION

a. Within run precision was determined using three controls in a total of 20 runs. Within each run, one set of duplicates per control was assayed. The mean of each duplicate was used to obtain the pooled standard deviation (SD), which was then used to calculate the coefficient of variation (CV).

Sample	Mean (U/mL)	Pooled SD (U/mL)	CV (%)
Serum A3	20.5	0.572	2.8
Serum B3	30.3	0.766	2.5
Serum C3	59.2	1.349	2.3

b. Total precision was determined by the duplicate assay of three controls in 20 separate runs. The means of each run were used to calculate the pooled standard deviation (SD) and coefficient of variation (CV).

Sample	Mean (U/mL)	Pooled SD (U/mL)	CV (%)
Serum A3	20.5	0.897	4.4
Serum B3	30.3	1.202	4.0
Serum C3	59.2	2.330	3.9

CORRELATION

The correlation between serum (x) and heparinized plasma (y) on ST AIA-PACK CA19-9 was carried out using 107 patient specimens.

Slope	0.990
y-Intercept	-0.144
Correlation Coefficient	0.999
Range of Samples	4.8 - 375.5
Number of Samples	107

SENSITIVITY

The minimal detectable concentration (MDC) of CA 19-9 is estimated to be 1.0 U/mL. The MDC is defined as the concentration of CA 19-9 which corresponds to the rate of fluorescence that is two standard deviations from the estimated mean rate of fluorescence of 10 replicate determinations of a CALIBRATOR (1).

INTERFERENCE

Interference is defined, for the purposes of this study, as recovery outside of 10% of the known mean concentration of the specimen after the following substances are added to human specimens.

- Hemoglobin (up to 390 mg/dL), free bilirubin (up to 17 mg/dL) and conjugated bilirubin (up to 18 mg/dL) do not interfere with the assay.
- Lipemia, as indicated by triglyceride concentration (up to 1,600 mg/dL), does not interfere with the assay.
- Ascorbic acid (up to 20 mg/dL) does not interfere with the assay.
- Protein, as indicated by human albumin concentration (up to 2.5 g/dL), does not interfere with the assay.
- Heparin (up to 100 U/mL) does not interfere with the assay.

REFERENCES

1. Koprowski, H., Steplewski, Z., Mitchell, K., Herlyn, M., Herlyn, D. and Fuhrer, P., Colorectal Carcinoma Antigens Detected by Hybridoma Antibodies., Somatic Cell Genetics, 5, 957 (1979).
2. Herlyn, M., Steplewski, Z. and Koprowski, H., Colorectal Carcinoma-Specific Antigen: Detection by Means of Monoclonal Antibodies., Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A., 76, 1437 (1979).
3. Magnani, J., Brockhaus, M., Smith, D., Ginsburg, V., Blaszczyk, M., Mitchell, K., Steplewski, Z. and Koprowski, H., A Monosialoganglioside is a Monoclonal Antibody Defined Antigen of Colon Carcinoma., Science, 212, 53 (1981).

4. Magnani, J., Nilson, B., Brockhaus, M., Zopf, D., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V., A Monoclonal Antibody-Defined Antigen Associated with Gastrointestinal Cancer is a Ganglioside Containing Sialylated Lacto-N-Fucopentose II., J. Biol. Chem., 257, 14365 (1982).
5. Magnani, J., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V., Identification of the Gastrointestinal and Pancreatic Cancer-Associated Antigen Detected by Monoclonal Antibody 19-9 in the Sera of Patients as a Mucin., Cancer Res., 43, 5489 (1983).
6. Delvillano, B., Brennan, S., Brock, P., Bucher, C., Liu, V., McClure, M., Rake, B., Space, S., Westrick, B., Shoemaker, H. and Zurawski, V., Radioimmunometric Assay for Monoclonal Antibody-Defined Tumor Marker, CA 19-9., Clin. Chem., 29, 549 (1983).
7. Pleskow, D. K., Berger, H. J., Gyves, J., Allen, E., McLean, A., Podolsky, K., Evaluation of a Serological Marker, CA19-9, in the Diagnosis of Pancreatic Cancer, Annals. Int. Med., 110, 704 (1989)
8. Ritts, R. E., Del Villano, B. C., Go, V. L. W., Herberman, R. B., Klug, T. L., Zurawski, V. R., Initial Clinical Evaluation of an Immunoradiometric Assay for CA 19-9 using the NCI Serum Bank, Int. J. Cancer, 33, 339 (1984)

TOSOH CORPORATION
Shiba-koen First Bldg.
3-8-2 Shiba, Minato-ku, Tokyo 105-8623
Japan
Phone :+81-3-5427-5181
Fax :+81-3-5427-5220

Supplied by

TOSOH BIOSCIENCE, INC.
6000 Shoreline Ct., Suite 101
South San Francisco, CA94080, USA
Phone :+1-650-615-4970
Fax :+1-650-615-0415
Phone :(800)248-6764
Fax :(800)685-7595